

Japanese Patent Laid-Open No. 7-300421

(71) Applicant: 591265954

Itano Reito Co., Ltd.

No. 33-2, Niken-ya, Myojin-aza, Seto-cho,

Naruto-shi, Tokushima-ken

(54) [Title of the Invention]

ANTI-INFLAMMATORY AGENT

(57) [Abstract]

[Constitution]

Anti-inflammatory agents characterized by comprising
astaxanthin diesters.

[Advantage]

The anti-inflammatory agent of the present invention
contains an astaxanthin diester as an active ingredient.
Therefore, it is expected that the anti-inflammatory agent has
active ingredients with an improved stability and superior
effects as compared with conventional anti-inflammatory agents
which contain astaxanthin and besides anti-inflammatory agents,
which alleviate the side effects of the other anti-inflammatory
agents and medicinal ingredients.

[Claims for the Patent]

[Claim 1]

An anti-inflammatory agent characterized by comprising astaxanthin diesters.

[Claim 2]

An anti-inflammatory agent characterized by comprising astaxanthin diesters extracted from krill.

[Claim 3]

An anti-inflammatory agent characterized by comprising astaxanthin diesters which have a physical property of giving a maximum peak in the range of 0.5 minute or more and 2 minutes 30 seconds or less in retention time when absorption at 470 nm is observed with an UV-visible spectrum detector in the identification by high-performance liquid chromatogram using RPC Microbonderpack NH₂ (8 mm. i.d × 100 mm) column produced by Waters Corporation and n-hexane: 2-propanol: methanol = 75:15:15 as a mobile phase at a flow rate of 2 ml/min.

[Claim 4]

An anti-inflammatory agent characterized by comprising astaxanthin diesters having the same or different esters selected from fatty acid diesters and glycerophosphoric acid diesters.

[Claim 5]

An anti-inflammatory agent characterized in that the astaxanthin diesters comprises astaxanthin fatty acid diesters having the same or different fatty acids selected from eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA),

linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid, oleic acid, palmitic acid and stearic acid.

[Claim 6]

A method of alleviating a side effect of a pharmaceutical agent having a side effect and a pharmaceutical agent alleviated in side effect characterized by comprising astaxanthin diesters.

[Claim 7]

An aspirin drug having an enhanced effect and an alleviated side effect characterized by comprising astaxanthin diesters.

[Detailed Description of the Invention]

[001]

[Industrial Application Field]

The present invention relates to an anti-inflammatory agent containing a specific astaxanthin derivative.

[002]

[Conventional Art]

Using a simple substance of astaxanthin or partially esterified derivatives of astaxanthin as an anti-inflammatory agent has been already known. For example, Japanese Patent Laid-Open No. 2-49091 uses astaxanthin, astaxanthin monoesters such as oleate ester, palmitate ester and stearate ester of astaxanthin as an active ingredient of an anti-inflammatory agent.

[003]

However, the simple substance of astaxanthin and astaxanthin monoesters mentioned above are susceptible to oxidative degradation by atmospheric oxygen. Accordingly, the physical stability thereof is poor and degradation over time occurs during the production process of the anti-inflammatory agents and storage period of the drug leading to deactivation of the effectiveness.

[004]

In addition, the simple substance of astaxanthin and monoesters have disadvantage that they are hard to be absorbed by the living body through enteric canals and skin.

[005]

Besides, there is another disadvantage that conventionally known monoesters of astaxanthin were too expensive to be readily used for general-purpose anti-inflammatory agents.

[006]

In the meantime, a number of pharmaceutical agents are limited in the smooth use thereof at present due to the problems of side effects, and there was no other effective means to alleviate the side effects of pharmaceutical agents but development of new drugs having no side effects, which leads to a problem that enormous development cost and time are required.

[007]

Meanwhile, aspirin is one of the most commonly used ingredients used as anti-inflammatory agents at present but there is a problem that taking a drug which comprises aspirin may cause side effects such as inappetence, heartburn, stomachache, nausea, vomiting, digestive organs bleeding, tinnitus, hearing loss, dizziness, headache, excitement, hyperpnoea, metabolic acidosis, rash, dropsical swelling, nasal inflammation symptom, conjunctivitis, exfoliative dermatitis, cerebropathy, Rye syndrome, which makes it hard to use aspirin.

[008]

[Problems to be Solved by the Invention]

An object of the present invention is to provide anti-inflammatory agents physically stable and easy to be absorbed through an enteric canal and skin which mainly comprises inexpensive and easily available astaxanthin esters. Another object of the present invention is to provide pharmaceutical

agents and aspirin drugs alleviated in side effects characterized in that they comprise astaxanthin diesters.

[009]

[Means for Solving the Problems]

Under the circumstances, the present inventor has conducted intensive studies to develop an inexpensive and easily available astaxanthin derivative which is stable during production process and over time, easy to be absorbed through an enteric canal and skin, and consequently have found that diester derivatives of astaxanthin satisfy these requirements and exhibit an excellent effect as an active ingredient of anti-inflammatory agents, and that when they are blended with pharmaceutical agents having a problem of side effects such as aspirin drugs, the side effects of the pharmaceutical agents are alleviated. The present inventor has also found that astaxanthin diesters obtained under a specific HPLC condition and astaxanthin diesters extracted from krill are particularly effective and thus completed the present invention. That is, the present invention provides anti-inflammatory agents characterized by comprising an astaxanthin diester derivative as an active ingredient and pharmaceutical agents alleviated in side effects. Hereinbelow, the present invention is described in detail.

[010]

Astaxanthin constituting astaxanthin diesters of the present invention is 3,3'-dihydroxy- β,β -carotene-4,4'-dione or the stereoisomers thereof.

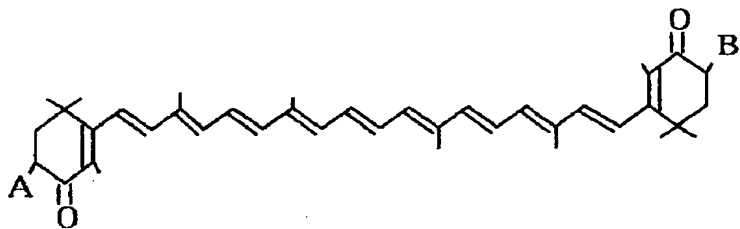
[011]

The stereoisomers of astaxanthin include (3R,3'R)-astaxanthin, (3R,3'S)-astaxanthin and (3S,3'S)-astaxanthin, and either one of these stereoisomers can be used in the present invention.

[012]

The astaxanthin diesters in claims 1 to 7 of the present invention are not particularly limited as long as they can take a diester structure and the specific examples thereof include those having the following structural formula.

[013]



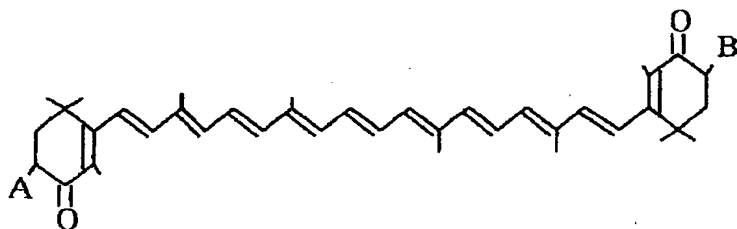
[014]

A and B consist of the same or different kind diesters selected from -OR (wherein R is a hydrocarbon having 1 or more and 50 or less carbon atoms), amino acid esters such as glycine and alanine, carboxylate esters such as acetate ester and citric acid ester and the salts thereof, or inorganic acid esters such as phosphate esters and sulfate esters and the salts thereof, sugar esters (glycosides) such as glucosides, fatty acid esters selected from polyunsaturated fatty acids, unsaturated fatty acids or saturated fatty acids, sugar fatty acid esters, glycerol sugar fatty acid esters, sphingosine sugar fatty acid esters, glycerol fatty acid esters, glycerophosphate esters.

[015]

The glycerophosphoric acid diesters of astaxanthin of the present invention have the following structural formula.

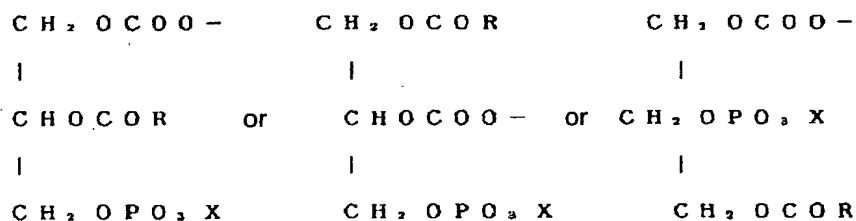
[016]



[017]

(A, B are selected from fatty acid esters such as oleate ester, palmitate ester, stearate ester or glycerophosphoric acid ester having the following structural formula.)

[018]



[019]

(R is selected from hydrogen or fatty acids selected from polyunsaturated fatty acids such as DHA, EPA, linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid, unsaturated fatty acids or saturated fatty acids. X is selected from hydrogen or choline, ethanolamine, serine and inositol.).

[020]

Among these astaxanthin diesters, astaxanthin diesters good in stability, inexpensive in price and relatively readily available and thus particularly suitable as raw materials of

anti-inflammatory agents include fatty acid esters of astaxanthin and glycerophosphate diesters of astaxanthin.

[021]

Among astaxanthin fatty acid diesters examples particularly effective as anti-inflammatory agents include astaxanthin fatty acid esters such as astaxanthin dilaurate ester, astaxanthin dimyristate ester, astaxanthin dipentadecanoate ester, astaxanthin dipalmitate ester, astaxanthin dipalmitooleate ester, astaxanthin diheptadecanoate ester, astaxanthin dielaidate ester, astaxanthin diricinoleate ester, astaxanthin petroselinate ester, astaxanthin vaccenate ester, astaxanthin eleostearate ester, astaxanthin punicate ester, astaxanthin licate ester, astaxanthin parinarate ester, astaxanthin gadoleate ester, astaxanthin 5-eicosenoate ester, astaxanthin 5-docosenoate ester, astaxanthin cetolic acid ester, astaxanthin erucate ester, astaxanthin 5,13-docosadienoate ester, astaxanthin selacholic acid ester, astaxanthin decenoate ester, astaxanthin stelling acid ester, astaxanthin dodecenoate ester, astaxanthin dioleate ester, astaxanthin distearate ester, astaxanthin dieicosapentaenoate ester, astaxanthin didocosaheptaenoate ester, astaxanthin dilinolenate ester, astaxanthin dilinoleate ester, astaxanthin diarachidonate ester.

[022]

Examples of astaxanthin diglycerophosphate esters include astaxanthin diglycerophosphate ester, astaxanthin glycerophosphate palmitate, astaxanthin glycerophosphatidylcholine palmitate, astaxanthin glycerophosphatidylcholine DHA, astaxanthin

glycerophosphatidylcholine palmitate, astaxanthin
glycerophosphatidylcholine DHA, astaxanthin
glycerophosphatidylcholine linoleate and astaxanthin
glycerophosphatidylcholine linoleate.

[023]

As the astaxanthin diesters of the present invention, natural astaxanthin diester containing substances derived from organisms having astaxanthin can be used. Examples of natural astaxanthin diester containing substances include diesters of astaxanthin extracted from yeasts such as *Phaffia*, algae such as *haematococcus*, seed plants such as pheasant's-eye, coelenterate such as coral, crustacean such as krill, shrimps and crabs, and astaxanthin diesters derived from krill which is inexpensive in price and scarcely smelling and excellent in pharmacological activity are particularly useful.

[024]

The krill in claim 2 of the present invention can be crustacean of Order Euphausiacea belonging to malacostraca or the extract thereof. Examples of krill include Euphausiacea *superba* (or *Euphausia superba* usually referred to as krill or South Pole krill and Euphausiacea *nictiphanes*, Euphausiacea *nematocelis* and Euphausiacea *pacifica*, and inter alia, South Pole krill is particularly suitable as krill used in the present invention which is inexpensive and can be harvested in a large amount.

[025]

As the diester of the astaxanthin of claim 2 of the present invention, extracts of frozen, boiled, steamed, dried or pulverized krill can be used.

[026]

As the extraction method, concentration method and purification method of the diester type astaxanthin of krill of claim 2 of the present invention, extraction methods of nature carotenoid such as free form astaxanthin described in Japanese Patent Laid-Open No. 3-48884 and Japanese Patent Laid-Open No. 2-49091 can be used and conventional extraction methods of oil-soluble ingredients from natural products can be also used.

[027]

For example, since the diester type astaxanthins are oil soluble substances, astaxanthin component can be extracted from those natural products with oil soluble organic solvents such as acetone, alcohol, ethyl acetate, benzene, chloroform as required, and harmful organic solvents can be removed by ordinary methods thereby obtaining astaxanthin condensate of diester form, but the extraction method is not limited in particular. In addition, these can be emulsified with an existing emulsifier described in the 12th revised Japanese Pharmacopeia (Hirokawa Shoten, 1991) and the 6th edition of Japanese Standards of Food Additives Commentary Book (Hirokawa Shoten, 1992) for use.

[028]

According to the studies of the present inventor, when the existence ratio of the astaxanthin diester in all astaxanthin in these natural extract is low, sufficient stability and anti-

inflammatory effect aimed at by the present invention cannot be exhibited. According to the studies of the present inventor, natural extract usable in the present invention must be an extract in which the ratio of the peak area of the astaxanthin diester contains 30% or more of all the astaxanthins when measured by the high-performance liquid chromatogram (HPLC) method under the following conditions.

[029]

More specifically, when absorption at 470 nm is observed with an UV-visible spectrum detector using Microbonderpack NH₂ (8 mm. i.d × 100 mm) column produced by Waters Corporation and n-hexane: 2-propanol: methanol = 75:15:15 as a mobile phase at a flow rate of 2 ml/min, the extract usable in the present invention must be an extract in which the ratio of the determined peak area of the astaxanthin diester contains 30% or more of all the astaxanthins assuming that the total peak area of astaxanthin and the derivatives thereof from zero minute to five minutes in the retention time is 100%.

[030]

According to the studies of the present inventor, the diesters of astaxanthin having a maximum peak from 0.5 minute to 2 minutes 30 seconds in the retention time under the same HPLC conditions as the above can be inexpensive and available in large quantities and they are highly stable and excellent as raw materials of an anti-inflammatory agent and a side effect alleviating agent of aspirin compared to the single substance of astaxanthin and astaxanthin monoester.

[031]

Some commercially available astaxanthin diester containing extract satisfying the HPLC conditions mentioned above can be used as the diesters of astaxanthin of the present invention, and examples thereof include Astax produced by Itano Reito Co., Ltd. and krill oil but they are not limited to these.

[032]

Examples of the pharmaceutical agents having side effects and those of the side effects on which the diesters of astaxanthin of claim 6 of the present invention can exhibit an alleviating effect include the following pharmaceutical agents and side effects.

[033]

For example, teratogenesis and digestive organ disorders which are side effects of steroidal anti-inflammatory agents such as hydrocortisone. Digestive organ disorders which are side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs such as aspirin, phenylbutazone, indomethacin, mefenamic acid and ibuprofen. Neuropathy and blood disorders which are side effects of anti-AIDS drugs such as AZT. Marrow disorders and teratogenesis which are side effects of antineoplastic agents such as nitrogen mustard. Marrow disorders, teratogenesis, liver disorders and nerve damage which are side effects of antibiotics such as chloramphenicol, tetracycline, streptomycin and kanamycin. Nerve disorders and blood disorders which are side effects of antipsychotic agents such as chlorpromazine and reserpine.

[034]

The addition amount of the diesters of astaxanthin to the anti-inflammatory agent of the present invention may vary depending on the refinement degree and purity of the diesters of astaxanthin but they can be added so that these astaxanthin derivatives are present in 0.001% by weight or more in terms of pure substances in the anti-inflammatory agent.

[035]

The addition amount of the astaxanthin diesters to the pharmaceutical agents having side effects and to the aspirin drug is 0.01 mol or more for 1 mol of the pharmaceutical agent for preparation. For example, in the case of aspirin, 0.01 mol or more of an astaxanthin diester in terms of a pure substance can be added to 1 mol of aspirin aluminium for preparation.

[036]

The formulation of the anti-inflammatory agent of the present invention can be in any form which can be added to the anti-inflammatory ingredient such as oral care products such as toothpaste, gargles and troches, baths, scalp and hair treatment agents such as shampoo, conditioner, hair tonic, hair cream, hair tonic and hair restorer, cosmetics such as cream, toilet water, milky liquid, lip cream and toiletries packs, pharmaceutical agents such as tablets, capsules and soft capsules, health foods and eye drops, ointment, topical cream and adhesive skin patch.

[037]

When an existing anti-inflammatory ingredient or an antiphlogistic ingredient are used together or in combination

with the anti-inflammatory agent of the present invention, synergistic effects in the anti-inflammatory action can be shown, and accordingly, these existing anti-inflammatory ingredients or antiphlogistic ingredients can be used together or in combination with diesters of astaxanthin. This is considered to be the results that these existing anti-inflammatory agents and diesters of astaxanthin act through physiological mechanism different in anti-inflammatory effect.

[038]

The antiphlogistic ingredients which can show these synergistic effects include aniline-based anti-inflammatory agents, salicylic acid derivatives-based anti-inflammatory agents, pyrazolone-based anti-inflammatory agents, indomethacin-based anti-inflammatory agent, mefenamic acid-based anti-inflammatory agent, antigout agents, anticonvulsant agents, cough suppressants, anti-phlegm agents, bronchodilators, breathing function improvement agents, antihistamines, antiallergic agents and antiphlogistic enzyme agents.

[039]

Substances having antioxidant ability can be added as a stabilizer to the anti-inflammatory agent comprising a diester of astaxanthin of the present invention and, for example, one compound or a mixture of two or more selected from vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E and the derivatives of these vitamins, a simple substance of astaxanthin, astaxanthin monoester, cysteine, glutathione, glutathione peroxidase, citric acid, phosphoric acids, polyphenols, nucleus acids, Chinese medicines, seaweeds and inorganic substances and existing anti-

oxidants on which there is a description that the substance has an antioxidant function in Japanese Pharmacopeia can be added and used together.

[040]

As astaxanthin diesters and monoglycerophosphoric acid derivatives of astaxanthin to be mixed in the anti-inflammatory agent of the present invention, protein bound substances of astaxanthin diesters and monoglycerophosphoric acid derivatives of astaxanthin can be also used.

[041]

The protein bound substances of astaxanthin diesters to be mixed in the anti-inflammatory agent of the present invention are not particularly limited as long as these derivatives and a protein are linked together.

[042]

The protein bound substances of astaxanthin in the present invention are not particularly limited as long as astaxanthin and a protein are linked together and include actomyosin bound type astaxanthin.

[043]

The diesters of astaxanthin of the present invention are excellent in physical stability as compared with monoesters of astaxanthin. This is considered to be the results that both the two OH groups which astaxanthin has are protected against air oxidation by ester bonds, but they do not affect the pharmacological effects of astaxanthin at all since the ester bonds are hydrolyzed with enzymes in the living bodies to be converted to free astaxanthin.

[044]

The simple substance of astaxanthin and the monoesters of astaxanthin rapidly decompose during the production process and the storage period of anti-inflammatory agents and lose the pharmacological effects of astaxanthin immediately but the diesters of astaxanthin are much more stable than the free compound.

[045]

As astaxanthin diesters of the present invention, those coated with a coating film such as gelatine and oils and fats can be used as required.

[046]

[Operation]

The astaxanthin diesters added to the anti-inflammatory agent of the present invention are physically more stable and hard to be oxidatively degraded in drugs as compared with astaxanthin and astaxanthin monoesters since the two hydroxyl groups of astaxanthin are protected by ester bonds. However, it is considered that once they are taken in the living body, they are immediately hydrolyzed to astaxanthin with enzymes in the living body, and exhibit extremely high radical scavenging effects in biotissues due to the existence of two keto groups and a hydroxyl group in a molecule, and prevent lipid hydroperoxide generation preventing the generation of the lipid peroxide. This is considered to be the reasons why they stably show excellent effects in the recovery from, delay in, prevention from the inflammation of the living body cells, as

well as in the alleviation of the side effects of the medicinal drugs.

[047]

[Examples]

Hereinbelow, the present invention is described by way of Examples and Comparative Examples in detail but the present invention is not limited to these.

[048]

Example 1

An example of fatty acid composition constituting the diesters which can be used as astaxanthin difatty acid esters of the present invention (diester concentration: 5.3% by weight in the total weight of astaxanthins produced by Itano Reito Co., Ltd.) is shown below. The astaxanthin diesters, which can be used in the present invention, are, however, not limited to these. (Hereinbelow, this product is simply abbreviated as astaxanthin diesters unless otherwise indicated in the following Examples and Comparative Examples.)

Fatty acid	Fatty acid composition ratio (wt%)
12:0	4.2
14:0	17.1
15:0	1.0
16:0	22.4
16:1 (n-7)	5.9
16:2	0.1
17:0	2.4
17:1	0.1
18:1 (n-9)	8.1
18:1 (n-7)	12.4
18:2 (n-6)	1.7
18:3 (n-3)	2.0
18:4 (n-3)	2.2
20:1	0.1
20:2	0.1
20:3	0.1
20:5 (n-3)	7.6
22:1 (n-9)	0.5
22:5	0.1
22:6 (n-3)	4.4
24:1	0.1
Others	7.4

[049]

Comparative Example 1

(Stability Test)

Stability of the following astaxanthin and the derivatives thereof after subjected to a heat treatment at 98°C for 30 minutes were compared. The titer after heat treatment was shown by percentage assuming the titer before the heat treatment to be 100%. The measurement of the titer was conducted by HPLC method.

	Titer after heat treatment at 98°C for 30 minutes
Astaxanthin (chemically synthesized product)	53%
Astaxanthin monopalmitate ester	79%
Astaxanthin monostearate ester	73%
Astaxanthin monooleate ester	77%
Astaxanthin dipalmitate ester	93%
Astaxanthin distearate ester	95%
Astaxanthin dioleate ester	93%
Astaxanthin diesters	94%

[050]

Comparative Example 2

(Anti-inflammatory effect on carrageenan induced foot dropsical swelling)

30 microliters of a normal saline solution was subcutaneously administered to the left foot and the same amount of a normal saline solution containing 2% of carrageenan was subcutaneously administered to the right foot thereby inducing a carrageenan induced foot dropsical swelling and the change in the foot volume was measured after four hours. Test was conducted using 1 ml of 0.3% algin solution for control group and 300 mg/kg of aspirin and 0.3% algin solution; 100 mg/kg of astaxanthin diesters and 0.3% algin solution; and 100 mg/kg of aspirin, 5 mg/kg of astaxanthin diesters and 0.3% algin solution for test groups, which were orally administered respectively one hour before carrageenan was administered.

[051]

	Increased ratio of rat foot volume by carrageenan induced foot dropsical swelling
Control group	67%
300 mg/kg of aspirin administered group	47%
100 mg/kg of astaxanthin diesters administered group	50%
100 mg/kg of aspirin and 5 mg/kg of astaxanthin diesters administered group	43%

[052]

Comparative Example 3

(Side effect alleviating effect on aspirin)

Healthy male 100 individuals from 29 years old to 53 years old were divided into two groups (each 50 individuals), and 10 mg/kg weight of aspirin was orally administered to one of the group (control group), and 10 mg/kg weight of aspirin and 5 mg/kg weight of astaxanthin dipalmitate ester (product having a purity of 95%) to the other group (test group) 30 minutes after the meal three times a day for three days without informing them of the content as soft capsules. Inquiry was performed whether the side effects such as inappetence, heartburn, stomachache, nausea, vomiting, tinnitus, hearing loss, dizziness, headache, excitement, hyperpnoea, rash, dropsical swelling, nasal inflammation symptom, conjunctivitis, exfoliative dermatitis occurred from the start of the test to three days after the test was ended. One point was accounted if any one of these symptoms appeared, and the total points of the respective group (each 50

individuals) were compared. As a result, the total points of the control group (50 individuals) amounted to 57 points while the total points of the test group amounted to 35 points and thus the side effect alleviating effect on aspirin by astaxanthin diester was confirmed.

[053]

Example 2

An antiphlogistic cold medicine was produced by the following formulation by an ordinary method.

Chlorpheniramine maleate	0.5%
Acetaminophen	20.5%
Anhydrous caffeine	6.0%
Acetylsalicylic acid	20.0%
Carbetapentane citrate	3.0%
Potassium guaiacolsulfonate	14.0%
High propyl cellulose	9.0%
Magnesium stearate	1.0%
Astaxanthin diesters	26.0%

[054]

Example 3

An antiphlogistic digestive medicine was produced by the following formulation by an ordinary method.

Cetraxate hydrochloride	10%
Sodium hydrogen carbonate	20%
Takadiastase	10%
Synthetic hydrotalcite	15%
Powdered cork tree bark	5%
powdered glycyrrhiza	10%

Astaxanthin diesters 30%

[055]

Example 4

An antiphlogistic cream was produced by the following formulation by an ordinary method.

Squalene	10.0
Stearic acid	8.0
Stearyl alcohol	5.0
Beeswax	2.0
Propylene glycol monostearate	3.0
Polyoxyethylene cetyl ether	1.0
Astaxanthin diesters	3.0
Propylene glycol	12.0
Paraben	0.2
Flavor	0.5
Purified water	balance

[056]

Example 5

An antiphlogistic milky lotion was produced by the following formulation by an ordinary method.

avocado oil	10.0
behenyl alcohol	0.5
stearic acid	0.5
fatty acid ester of glycerin	1.0
polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester	1.0
polyoxyethylene alkyl ether	0.5
astaxanthin diesters	3.0
propylene glycol	10.0

paraben	0.2
Flavor	0.5
Purified water	balance

[057]

Example 6

A health food encapsulated in a softcapsule with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Fish oil containing EPA and DHA	40%
Gelatine	17%
Glycerin	5%
Fatty acid ester of glycerin	4%
Beeswax	3%
Vitamins E	1%
Astaxanthin diesters	30%

[058]

Example 7

A tablet-like health food with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

High propyl cellulose	9%
Refined sugar	75%
Magnesium stearate	1%
Vitamins C	10%
Astaxanthin diesters	5%

[059]

Example 8

A granular health food with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Lactose	75%
Starch	9%
Vitamins C	4%
Vitamins E	1%
Gelatine	1%
Astaxanthin diesters	10%

[060]

Example 9

A hair tonic with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Ethanol	60.0%
Castor oil	4.0
Resorcin	0.8
Methylparaben	0.1%
Capsicum tincture	0.5%
α -tocopherol	0.5%
Astaxanthin diesters	0.5%
Purified water	balance

[061]

Example 10

Shampoo with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Laurylsulfate triethanolamine salt	16.0%
Lauric acid diethanolamide	3.0%
Polyacrylic acid triethanolamine salt	0.5%
Zinc pyridinium-1-thiol-N-oxide	1.0%
Astaxanthin diesters	0.5%
Pigment	very small amount

Flavor	0.5%
Purified water	balance

[062]

Example 11

A conditioner with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Stearyl chloride dimethylbenzyl ammonium	1.4%
Stearyl alcohol	0.6%
Glyceryl monostearate	1.5%
Sodium chloride	0.2%
Astaxanthin diester	1.0%
Purified water	balance

[063]

Example 12

A bath salt with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Sodium hydrogen carbonate	35.5%
Citric acid	38.0%
Polyethylene glycol	2.0%
Magnesium oxide	1.0%
α -tocopherol	0.5%
Astaxanthin diesters	25.0%
Pigment	very small amount
Flavor	2.0%

[064]

Example 13

A toothpaste with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Calcium secondary phosphate dihydrate	45.0%
Sodium carboxymethylcellulose	0.5%
Carrageenan	0.5%
Glycerin	10.0%
Sorbitol	10.0%
Saccharin sodium	0.1%
Sodium lauryl sulfate	2.0%
Sodium chloride	2.0%
α -tocopherol	0.5%
Astaxanthin diesters	1.0%
Preservative	0.1%
Flavor	0.5%
Purified water	balance

[065]

Example 14

A gargle with an anti-inflammatory agent was produced by the following formulation by an ordinary method.

Ethyl alcohol	35.0%
Glycerin	14.0%
α -tocopherol	0.5%
Astaxanthin diesters	1.0%
Flavor	0.1%
Purified water	balance

[066]

Comparative Example 4

(Physical properties of astaxanthin diesters)

An astaxanthin diesters containing oil prepared by Itano Reito Corporation, which can be used in the present invention,

was measured with high-performance liquid chromatogram under the following conditions. As a result, the retention time of the maximum peak of the astaxanthin diesters was 1 minute 45 seconds, and the area ratio for all areas of the astaxanthins was 61.2%. On the other hand, conventional astaxanthin and monoester of astaxanthin were measured under the same conditions, which showed the maximum peaks at 3 minutes 01 second for astaxanthin and at 2 minutes 10 seconds for astaxanthin diester and can be definitely separated from the astaxanthin diesters.

[067]

Measurement conditions of the high-performance liquid chromatogram; Absorption at 470 nm was observed with an UV-visible spectrum detector using RPC Microbonderpack NH₂ (8 mm. i.d × 100 mm) column produced by Waters Corporation and n-hexane: 2-propanol: methanol = 75:15:15 as a mobile phase at a flow rate of 2 ml/min.

[068]

Comparative Example 5

(Lipoperoxide suppressing effect by local application)

Charles river (CRT) ICR nude mice were divided into two groups and one of the groups was used as a test group in which each 1.0 g of an astaxanthin diesters containing anti-inflammatory composition shown in the following Table produced by Itano Reito Corporation was uniformly applied on a cotton gauze of 2×4cm and they were fixed on a particular site on the back of 20 individuals of the mice. Another composition from which only astaxanthin diesters were removed was fixed as a control in the same way as the above Example in the other group,

and they are changed to new one at the same time once a day and this procedure was continued for 14 days. Before exchanging these gauzes, 2 ml of a 3% (W/V) concentration 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (hereinbelow abbreviated as AAPH) aqueous solution, which was a lipid hyperoxidation reaction initiator as an inflammatory proceeding substance, was soaked into gauzes of the same size as above and they were attached on the same site of all the individuals for three hours once a day. Lipid peroxide concentration (hereinbelow abbreviated as FBARS) in the epidermis of the test points on the back of the mice was measured by thio barbituric acid reactive substance measuring method 14 days later. The ratio of TBARS in the test group to the control group was determined and the average values were summarized in the Table shown below. As a result, TBARS in the epidermis of the test group mice to which the anti-inflammatory agent of the present invention was attached was advantageously low as compared with that of the control group and thus it has been suggested that the agent of the present invention prevented inflammation of the epidermis. An effect of the anti-inflammatory agent of the present invention has been confirmed from the results of this comparison test.

[069]

Name of anti-inflammatory agent	TBARS ratio (test group/control group)
Cream	0.81
Milky lotion	0.76
Hair tonic	0.42
Toothpaste	0.51
Gargle (5% solution)	0.55

[070]

Comparative Example 6

(Lipoperoxide suppressing effect by oral administration)

10 mg/kg of AAPH was compulsorily administered orally to Sprague-Dawley rats as a 2% (W/V) aqueous solution and 20 mg/kg of the health foods and antiphlogistic agents above were orally administered in the test group and those in which astaxanthin diesters were removed from the example to the control group. Feeding and watering were not limited. TBARS in the small intestine was measured 18 hours later and the ratio of the test group to the control group was determined similarly to the Comparative Example 1. As shown in the following Table, lipid peroxide suppressing effect was recognized in health foods and antiphlogistic agents of the present invention and anti-inflammatory effect was confirmed.

[071]

Name of anti-aging composition		TBARS ratio (test group/control group)
Antiphlogistic agent	Example 2	0.57
Antiphlogistic agent	Example 3	0.75
Health food	Example 6	0.65
Health food	Example 7	0.58
Health food	Example 8	0.74

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-300421

(43) 公開日 平成 7 年 (1995) 11 月 14 日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/56	A B E	7431-4C		
7/00				
31/21		9455-4C		
31/23		9455-4C		
31/235		9455-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 7 書面 (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-126722

(22) 出願日 平成 6 年 (1994) 4 月 28 日

(71) 出願人 591265954

イタノ冷凍株式会社

徳島県鳴門市瀬戸町明神字式軒家33番地の
2

(72) 発明者 山下 栄次

徳島県徳島市北矢三町 3 - 5 - 46-301

(54) 【発明の名称】 抗炎症剤

(57) 【要約】

【構成】 アスタキサンチンジエステル類を含有することを特徴とする抗炎症剤。

【効果】 本発明の抗炎症剤は、有効成分としてアスタキサンチンのジエステル類を配合することにより従来のアスタキサンチンを配合した抗炎症剤よりも有効成分の安定性が高く、より高い効果が期待でき、また他の抗炎症剤や薬品成分の副作用も軽減する抗炎症剤を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】アスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とする抗炎症剤。

【請求項2】オキアミから抽出されたアスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とする抗炎症剤。

【請求項3】アスタキサンチンのジエステル類の物性が、高速液体クロマトグラムを用いて同定する時、ウォーターズ社製R P CマイクロボンダバックNH₂ (8 m m. i. d x 100 m m) のカラムを使用し、移動相に n-ヘキサン：2-プロパノール：メタノール=75：15：15を用いて、流速2 m l / m i n. で移動相を流した時、紫外可視吸収スペクトル検出器で470 n m の吸収を観測した場合、保持時間が0.5分以上から2分30秒以下までの範囲に極大ピークが得られるアスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とする抗炎症剤。

【請求項4】アスタキサンチンのジエステル類のジエステル類が、脂肪酸ジエステル類、グリセロリン酸ジエステル類より選択される同種または異種のエステルより構成されるアスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とする抗炎症剤。

【請求項5】アスタキサンチンのジエステル類のジエステル類が、エイコサペンタエン酸(E P A)、ドコサヘキサエン酸(D H A)、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、オレイン酸、パルミチン酸、ステアリン酸から選択される同一または異種の脂肪酸のより構成されるアスタキサンチンの脂肪酸ジエステル類を配合することを特徴とする抗炎症剤。

【請求項6】アスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とする副作用を持つ医薬品の副作用防止方法及び副作用を軽減した医薬品。

【請求項7】アスタキサンチンのジエステル類を配合することを特徴とするアスピリンの効果を増大させ、かつアスピリンの副作用を軽減したアスピリン製剤。

【発明の詳細な説明】

【001】

【産業上の利用分野】本発明は特殊なアスタキサンチン誘導体を含有する抗炎症剤に関する。

【002】

【従来の技術】アスタキサンチンの単体またはアスタキサンチンの一部のエステル誘導体を抗炎症剤として用いることはすでに公知となっている。例えば特開平2-49091ではアスタキサンチン、アスタキサンチンのオレイン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステルなどのアスタキサンチンのモノエステルを抗炎症剤の有効成分としている。

【003】しかしこれらのアスタキサンチンの単体やアスタキサンチンのモノエステルは、空気中の酸素による酸化分解を受けやすく物理的安定性が悪く抗炎症剤の製造工程や製剤の保存期間中に経時的に分解され有効性を

失活してしまう。

【004】またアスタキサンチンの単体やモノエステル体は腸管や皮膚から生体内に吸収されにくいという欠点があった。

【005】またアスタキサンチンの公知のモノエステルは高価であり汎用の抗炎症剤としては使いにくいという欠点があった。

【006】一方、現在多くの医薬品がその副作用の問題で円滑な使用を制限されているが、医薬品の副作用を軽減するには副作用のない新薬の開発ぐらいし有効な手段がなく、この方法だと膨大な開発費用と時間が必要になるという問題があった。

【007】また、アスピリンは現在抗炎症剤として最も汎用されている成分のひとつであるが、アスピリンを配合した製剤を服用すると食欲不振、胸やけ、胃痛、悪心、嘔吐、消化管出血、耳鳴り、難聴、めまい、頭痛、興奮、過呼吸、代謝性アシドーシス、発疹、浮腫、鼻炎様症状、結膜炎、剥脱性皮膚炎、脳疾患、ライ症候群等の副作用を生じることがあり、使いにくいという問題があった。

【008】

【発明が解決しようとする問題点】本発明の目的は物理的に安定で、腸管や皮膚から吸収されやすく、安価に入手可能なアスタキサンチンのジエステル体を主成分とする抗炎症剤を提供すること。及びアスタキサンチンのジエステル体を配合することを特徴とする副作用の軽減された医薬品及びアスピリン製剤を提供するものである。

【009】

【課題を解決するための手段】斯かる事情にかんがみ本発明者らは製造工程や経時的にも安定で、腸管や皮膚から吸収されやすく、安価に入手可能なアスタキサンチンの誘導体を開発すべく鋭意検討を重ねた結果、アスタキサンチンのジエステル誘導体類がこれらの条件を満たし抗炎症剤の有効成分として優れた効果を示すことを見だし、またこれらのジエステルをアスピリン製剤等の副作用が問題になっている医薬品類に配合するとその医薬品の副作用が軽減されることを見いだした。またこれらの効果は特定のH P L C条件で分取されるアスタキサンチンジエステルやオキアミ抽出のアスタキサンチンジエステルが特に有効であることを見だし本発明を完成した。即ち本発明はアスタキサンチンのジエステル誘導体類を有効成分とすることを特徴とする抗炎症剤と副作用を軽減した医薬品を提供するものである。以下、本発明を更に詳細に説明する。

【010】本発明のアスタキサンチンのジエステルを構成するアスタキサンチンとは3, 3'-ジヒドロキシ-β, β-カロテン-4, 4'-ジオン又はその立体異性体である。

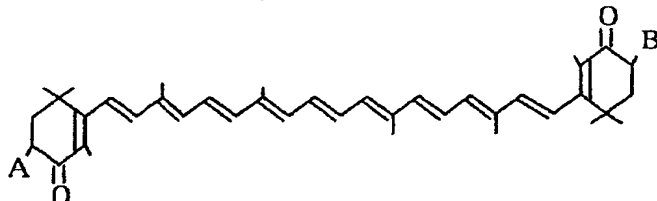
【011】このアスタキサンチンの立体異性体には(3 R, 3' R)-アスタキサンチン、(3 R, 3' S)-

アスタキサンチン、及び(3S, 3'S)-アスタキサンチンがあるが本発明にはそのいずれの立体異性体も使用できる。

【012】本発明の請求項1から7のアスタキサンチン*

*のジエステル類とは、ジエステル構造を取り得る物質であれば特に限定されないが、その具体例としては以下の構造式からなるものがある。

【013】

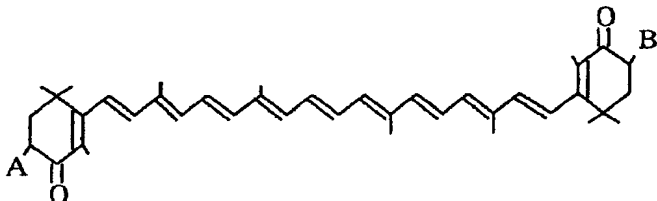


【014】A、Bは、-OR (Rは炭素数1以上50以下の炭化水素類)、グリシン、アラニン等のアミノ酸エステル類、酢酸エステル、クエン酸エステル等のカルボン酸エステル及びその塩類、又はリン酸エステル、硫酸エステル等の無機酸エステル類及びその塩類、グルコシド等の糖エステル(配糖体)類、又は高度不飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸又は飽和脂肪酸から選択される脂肪酸※

※エステル類、糖脂肪酸エステル類、グリセロ糖脂肪酸エステル類、スフィンゴ糖脂肪酸エステル類、グリセロ脂肪酸エステル類、グリセロリン酸エステル類等から選択される同種又は異種のジエステルより構成される。

【015】本発明のアスタキサンチンのグリセロリン酸のジエステルとは以下の構造式を有する。

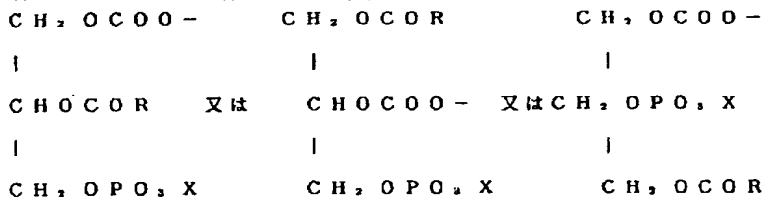
【016】



【017】(A、Bはオレイン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステル等の脂肪酸エステル類又は以下の構造式を有するグリセロリン酸エステル類★

★より選択される。)

【018】



【019】(Rは水素又はDHA、EPA、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸等の高度不飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸又は飽和脂肪酸から選択される脂肪酸類から選択される。Xは水素又はコリン、エタノールアミン、セリン、イノシトールより選択される。)

【020】これらのアスタキサンチンのジエステル類の内、安定性が良好でかつ価格が安価で比較的容易に入手可能な抗炎症剤の原料として特に適しているアスタキサンチンのジエステル類としては、アスタキサンチンの脂肪酸エステル類およびアスタキサンチンのグリセロリン酸のジエステルがある。

【021】アスタキサンチンの脂肪酸ジエステルのうち特に抗炎症剤として有効なものの例としては、アスタキサンチンジラウリン酸エステル、アスタキサンチンジミリスチン酸エステル、アスタキサンチンジペンタデカン酸エステル、アスタキサンチンジパルミチン酸エステル、アスタキサンチンジパルミトオレイン酸エステル、

アスタキサンチンジヘプタデカン酸エステル、アスタキサンチンジエライジン酸エステル、アスタキサンチンジリノール酸エステル、アスタキサンチンベトロセリン酸エステル、アスタキサンチンバクセン酸エステル、アスタキサンチンエレオステアリン酸エステル、アスタキサンチンブニシン酸エステル、アスタキサンチンリカン酸エステル、アスタキサンチンバリナリン酸エステル、アスタキサンチンガドール酸エステル、アスタキサンチン5-エイコセン酸エステル、アスタキサンチン5-ドコセン酸エステル、アスタキサンチンセトール酸エステル、アスタキサンチンエルシン酸エステル、アスタキサンチン5, 13-ドコサジエン酸エステル、アスタキサンチンセラコール酸エステル、アスタキサンチンデセン酸エステル、アスタキサンチンステリング酸エステル、アスタキサンチンドデセン酸エステル、アスタキサンチンジオレイン酸エステル、アスタキサンチンジステアリン酸エステル、アスタキサンチンジエイコサペンタエン

酸エステル、アスタキサンチンジドコサヘキサエン酸エステル、アスタキサンチンジリノール酸エステル、アスタキサンチンジリノレン酸エステル、アスタキサンチンジアラキドン酸エステル等のアスタキサンチン脂肪酸エステル類がある。

【022】アスタキサンチングリセロリン酸エステル類の例としてはアスタキサンチングリセロリン酸エステル、アスタキサンチングリセロリン酸バルミチン酸、アスタキサンチングリセロフォスファチジルコリンバルミチン酸、アスタキサンチングリセロフォスファチジルコリンDHA、アスタキサンチングリセロフォスファチジルイノシトールバルミチン酸、アスタキサンチングリセロフォスファチジルイノシトールDHA、アスタキサンチングリセロフォスファチジルイノシトールリノール酸、アスタキサンチングリセロフォスファチジルコリンリノール酸等がある。

【023】本発明のアスタキサンチンジエステルはアスタキサンチンを持つ生物由来の天然のアスタキサンチンジエステル含有物を使用することもできる。これら天然由来のアスタキサンチンジエステル含有物の例としては、例えばファフィア等の酵母類、ヘマトコッカス等の藻類、フクジュソウ等の種子植物、サンゴ等の空腸動物、オキアミ、エビ、カニ等の甲殻類等から抽出されたアスタキサンチンのジエステル体があるが価格が安価で臭いが少なく薬理活性効果のすぐれているオキアミ由来のアスタキサンチンジエステルが特に有用である。

【024】本発明の請求項2のオキアミとは軟甲亜綱に属するオキアミ目の甲殻類またはその抽出物であればよい。オキアミの例としては、通称、オキアミ、南極オキアミ、またはクリル（*Krill*）と呼ばれるエウファシアセア スベルバ（またはエウファシア スベルバ）やエウファシアセア ニクチファネス、エウファシアセア ネマトスセリス、エウファシアセア バシフィカ等があるが、中でも南極オキアミは、安価に大量に捕獲できることから本発明に利用するオキアミとして特に適している。

【025】本発明の請求項2のアスタキサンチンのジエステルはオキアミの凍結物、煮物、蒸物、乾燥物、粉砕物等の抽出物も利用できる。

【026】本発明の請求項2のオキアミのジエステル型アスタキサンチンの抽出法、濃縮法、精製法等は特開平3-48884及び特開平2-49091に記述されている遊離型のアスタキサンチン等の天然カロテノイドの抽出法を利用することもでき、また従来の天然物からの油溶成分の抽出法も利用できる。

【027】例えば、ジエステル型アスタキサンチンが油溶性物質であることから、必要に応じそれらの天然物をアセトン、アルコール、酢酸エチル、ベンゼン、クロロホルム等の油溶性有機溶媒でアスタキサンチン含有成分を抽出し有害な有機溶媒を常法により除去してジエステ

ル型のアスタキサンチン濃縮物が得られるが、その抽出方法は特に限定されない。またこれらを第十二改正日本薬局法（廣川書店、1991）及び第六版食品添加物公定書解説書（廣川書店、1992）に掲載された既存の乳化剤で乳化させて使用することもできる。

【028】本発明者らの研究によるとこれら天然抽出物中の全アスタキサンチンにおけるアスタキサンチンジエステルの存在比率が低いと本発明の目的とする十分な安定性及び抗炎症効果を発揮することができない。本発明者の研究により、以下の条件の高速液体クロマトグラム（HPLC）法で測定する時、本発明に使用できる天然抽出物はアスタキサンチンジエステルのピーク面積の比率が、全アスタキサンチンの30%以上含有する抽出物でなければならない。

【029】詳しくはウォーターズ社製マイクロホンダバックNH₂（8mm, i. d x 100mm）のカラムを使用し、移動相にn-ヘキサン：2-プロパノール：メタノール=75：15：15を用いて、流速2ml/min.で移動相を流した時、紫外可視吸収スペクトル検出器で470nmの吸収を観測した場合、保持時間が0分以上から5分以下のアスタキサンチン及びその誘導体のピーク面積の合計を100%とした時のアスタキサンチンのジエステル体のピーク面積の比率を求めた時、全アスタキサンチンピーク面積の30%以上含有する抽出物でなければならない。

【030】また、本発明者らの研究によると上記と同一のHPLC条件により保持時間0.5分から2分30秒までに極大ピークのあるアスタキサンチンのジエステル類は、アスタキサンチン単体及びアスタキサンチンのモノエステル誘導体よりも、安価に大量に入手でき、安定性も高く抗炎症剤及びアスピリンの副作用軽減剤の原料としてすぐれている。

【031】本発明のアスタキサンチンのジエステルとして、上記のHPLC条件を満たす市販のアスタキサンチンジエステル含有抽出物が使用できる場合もあり、その例としてはイタノ冷凍株式会社製のAstax（アスタックス）、オキアミオイル等があるがこれに限定されない。

【032】本発明の請求項6のアスタキサンチンのジエステルが副作用軽減効果を発揮しうる、副作用のある医薬品とその副作用の例としては以下のような医薬品とその副作用がある。

【033】例えばヒドロコルチゾン等のステロイド性抗炎症薬の副作用である催奇形成及び消化器障害。アスピリン、フェニルブタゾン、インドメタシン、メフェナム酸、イブプロフェン等の非ステロイド性抗炎症薬の副作用である消化器障害。AZT等の抗エイズ薬の副作用である神経障害及び血液障害。ナイトロジェンマスタード等の抗悪性腫瘍薬の副作用である骨髄障害及び催奇形成。クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ストレ

ブトマイシン、カナマイシン等の抗生物質の副作用である骨髄障害、催奇形成、肝障害、神経障害。クロロプロマジン、レセルピン等の抗精神病薬の副作用である神経障害及び血液障害等がある。

【034】本発明の抗炎症剤に配合するアスタキサンチンのジエステルの抗炎症剤への配合量はそのアスタキサンチンのジエステル類の精製度、純度により異なるが抗炎症剤中のこれらアスタキサンチン誘導体類が純品換算で0.001%重量以上になるよう添加すればよい。

【035】アスタキサンチンジエステルの副作用のある医薬品及びアスピリン製剤への配合量は副作用のある医薬品1molに対してアスタキサンチンのジエステルを0.01mol以上添加した配合比率で製剤化する。例えばアスピリンの場合はアスピリンアルミニウム1molに対しアスタキサンチンのジエステルを純品換算で0.01mol以上添加して医薬品を製剤化すれば良い。

【036】本発明の抗炎症剤の剤形は歯磨き、うがい薬、トローチなどの口腔用剤類、浴用剤類、シャンプー、リンス、ヘアトニック、ヘアクリーム、養毛剤、育毛剤、頭皮用剤等の頭皮毛髪用剤類、クリーム、化粧水、乳液、リップクリーム、パック等の化粧品類、錠剤、カプセル、ソフトカプセル等の医薬品類、健康食品類、及び点眼薬、軟膏、塗薬、パップ剤などの抗炎症成分の添加可能なすべての剤形をとることができる。

【037】本発明の抗炎症剤に既存の抗炎症成分または消炎成分を併用又は混用すると抗炎症作用の相乗効果が発揮できるのでこれら既存の抗炎症成分または消炎成分をアスタキサンチンのジエステルと併用または混用することができる。これは既存の抗炎症剤とアスタキサンチンのジエステルの抗炎症作用が異なる生理機構により作用する理由によるものと考えられる。

【038】これらの相乗効果の発揮し得る消炎成分としてはアニリン誘導体型消炎剤、サリチル酸誘導体型消炎剤、ピラゾロン誘導体型消炎剤、インドメタシン系消炎剤、メフェナム酸系消炎剤、抗痛風剤、鎮けい剤、鎮咳剤、去たん剤、気管支拡張剤、呼吸機能改善剤、抗ヒスタミン剤、抗アレルギー剤、好炎酵素剤等がある。

【039】本発明のアスタキサンチンのジエステルを配合した抗炎症剤には安定剤として抗酸化能を持つ物質を添加することができ、例えばビタミンA、ビタミンB、ビタミンC、ビタミンE及びこれらのビタミン誘導体、アスタキサンチンの単体、アスタキサンチンモノエステル、システイン、グルタチオン、グルタチオンペルオキシターゼ、クエン酸類、リン酸類、ポリフェノール類、核酸類、漢方薬類、海藻類、無機物及び日本薬局法に抗酸化機能を保持する記述がある既存の抗酸化剤より選択される一種又は二種以上の混合物を併用して添加することもできる。

【040】本発明の抗炎症剤に配合するアスタキサンチ

ンジエステル体及びアスタキサンチンのモノグセロリン酸誘導体として、アスタキサンチンのジエステル誘導体およびアスタキサンチンのモノグセロリン酸誘導体の蛋白質結合体を使用することもできる。

【041】本発明の抗炎症剤に配合するアスタキサンチンのジエステルの蛋白質結合体とはこれらの誘導体とプロテインとが結合したものであればよく特に限定されない。

【042】本発明のアスタキサンチンの蛋白質結合体とはアスタキサンチンとプロテインとが結合したものであればよく例えばアクトミオシン結合型アスタキサンチン等があるがこれに限定されない。

【043】本発明のアスタキサンチンのジエステル類は、アスタキサンチンのモノエステル類よりも物理的安定性の点ですぐれている。これはアスタキサンチンの持つ2つのOH基が2つともエステル結合により空気酸化に対して保護されているためであると考えられるが、生体中では酵素によりエステル結合が加水分解されアスタキサンチンの遊離体に変換されるためアスタキサンチンの薬理効果にはなんら影響しない。

【044】アスタキサンチンの単体及びアスタキサンチンのモノエステルは抗炎症剤の製造工程や保存期間中に速やかに分解されアスタキサンチンの薬理作用を速やかに消失してしまうが、アスタキサンチンのジエステル体は遊離体よりもはるかに安定性が良好である。

【045】本発明のアスタキサンチンジエステル体には必要に応じてゼラチン、油脂類、等の被膜剤で被膜したものをを使用することもできる。

【046】

【作用】本発明の抗炎症剤に添加されたアスタキサンチンジエステル類はアスタキサンチンの2つの水酸基がエステル結合により保護されているため物理的にアスタキサンチンやアスタキサンチンのモノエステルよりも安定性がよく製剤中で酸化分解されにくい。しかし生体中に取り込まれると生体内酵素により速やかにアスタキサンチンに加水分解され分子内に持つ2つのケト基と水散基の存在により生体組織中で極めて高いラジカルスカベンジング作用を示し脂質ヒドロペルオキシド生成を抑制し過酸化脂質の生成を防止することにより生体細胞の炎症の回復、遅延、防止、及び薬品の副作用軽減に優れた作用を安定して示すものと考えられる。

【047】

【実施例】以下、本発明を実施例、比較例により詳細に説明するが本発明はこれらに限定されるものではない。

【048】実施例1

本発明に使用できるアスタキサンチンジ脂肪酸エステル（全重量中の総アスタキサンチンジエステル類濃度5.3%重量、イタノ冷凍社製）のジエステルを構成する脂肪酸組成の例を以下に示す。ただし本発明に使用できるアスタキサンチンジエステルはこれに限定されるもので

はない。(以下の実施例、比較例には特に指定のない限り* *り本品を単にアスタキサンチンジエステルと略す。)

脂 肪 酸	脂 肪 酸 組 成 比 (重 量 %)
12 : 0	4.2
14 : 0	17.1
15 : 0	1.0
16 : 0	22.4
16 : 1 (n-7)	5.9
16 : 2	0.1
17 : 0	2.4
17 : 1	0.1
18 : 1 (n-9)	8.1
18 : 1 (n-7)	12.4
18 : 2 (n-6)	1.7
18 : 3 (n-3)	2.0
18 : 4 (n-3)	2.2
20 : 1	0.1
20 : 2	0.1
20 : 3	0.1
20 : 5 (n-3)	7.6
22 : 1 (n-9)	0.5
22 : 5	0.1
22 : 6 (n-3)	4.4
24 : 1	0.1
その他	7.4

【049】比較例1
(安定性試験) 下記のアスタキサンチン及びその誘導体の98℃、30分の加熱処理後における安定性を比較し

た。過熱前を100%として過熱後の力価を百分率で表した。力価の測定はHPLC法によった。

98℃、30分の加熱処理後の力価

アスタキサンチン（化学合成品）	5.3%
アスタキサンチンモノバルミチン酸エステル	7.9%
アスタキサンチンモノステアリン酸エステル	7.3%
アスタキサンチンモノオレイン酸エステル	7.7%
アスタキサンチンジバルミチン酸エステル	9.3%
アスタキサンチンジステアリン酸エステル	9.5%
アスタキサンチンジオレイン酸エステル	9.3%
アスタキサンチンジエステル	9.4%

【050】比較例2

（カラギーナン誘発性足浮腫に対する抗炎症効果）マウスの左足に30マイクロリットル生理食塩水を、右足に2%カラギーナンを含む同量の生理食塩水を皮下投与しカラギーナン誘発性足浮腫を誘発させ、その足の体積変化を4時間後に測定した。コントロール区は、1mlの0.3%アルギン溶液を、実験群としてアスピリン30*

*0mg/kgと0.3%アルギン溶液、アスタキサンチンジエステル100mg/kgと0.3%アルギン溶液及びアスピリン100mg/kgとアスタキサンチンジエステル5mg/kgと0.3%アルギン溶液をそれぞれカラギーナン投与の1時間前に経口投与したマウスを用いて測定した。

【051】

カラギーナン誘発性足浮腫による
ラットの足の体積増加率

コントロール 区	6.7%
アスピリン300mg/kg 投与区	4.7%
アスタキサンチンジエステル 100mg/kg投与区	5.0%
アスピリン100mg/kg とアスタキサンチンジエス テル5mg/kg投与区	4.3%

【052】比較例3

（アスピリンの副作用軽減効果）年齢29歳から53歳の健康な男性100人を50人ずつ2つのグループに分け、一方にコントロールとしてアスピリン10mg/kg体重を、他方に実験区としてアスピリン10mg/kg体重とアスタキサンチンジバルミチン酸エステル（純度95%品）5mg/kg体重を内容を知らせずソフトカプセルとして食後30分後に1日3回3日間経口投与し食欲不振、胸やけ、胃痛、悪心、嘔吐、耳鳴り、難

聴、めまい、頭痛、興奮、過呼吸、発疹、浮腫、鼻炎様症状、結膜炎、剥脱性皮膚炎等の副作用を試験開始時から試験終了後3日後までに生じたかどうかを聞き取り調査した。どれか1つでも症状が出た場合は1点として各区50人の合計点数をコントロール区と実験区で比較したところ、コントロール区の50人の合計点数が57点、実験区の合計が35点でアスタキサンチンジニステルのアスピリンの副作用軽減効果が確認された。

【053】実施例2

以下の処方により常法により消炎カゼ薬を製造した。

マレイン酸クロルフェラミン	0.5%
アセトアミノフェン	20.5%
無水カフェイン	6.0%
アセチルサリチル酸	20.0%
クエン酸カルベタペンタン	3.0%
グアヤコールスルホン酸カリウム	14.0%
ハイプロビルセルロース	9.0%
ステアリン酸マグネシウム	1.0%
アスタキサンチンジエステル	26.0%

【054】実施例3

* * 次の処方により常法により消炎胃腸薬を製造した。

塩酸セトラキサート	10%
炭酸水素ナトリウム	20%
タカジアスクーズ	10%
合成ヒドロタルサイト	15%
オウバク末	5%
カンゾウ末	10%
アスタキサンチンジエステル	30%

【055】実施例4

※ ※ 次の処方に従い常法により消炎クリームを製造した。

スクワラン	10.0
ステアリン酸	8.0
ステアリルアルコール	5.0
ミツロウ	2.0
プロピレングリコールモノステアレート	3.0
ポリオキシエチレンセチルエーテル	1.0
アスタキサンチンジエステル	3.0
プロピレングリコール	12.0
パラベン	0.2
香料	0.5
精製水	残分

【056】実施例5

★ ★ 次の処方に従い常法により消炎乳液を製造した。

アボガド油	10.0
ベヘニルアルコール	0.5
ステアリン酸	0.5
グリセリン脂肪酸エステル	1.0
ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル	1.0
ポリオキシエチレンアルキルエーテル	0.5
アスタキサンチンジエステル	3.0
プロピレングリコール	10.0
パラベン	0.2
香料	0.5
精製水	残分

【057】実施例6

☆ 健康食品を製造した。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入りソフトカプセル☆

EPA及びDHA含有魚油	40%
ゼラチン	17%
グリセリン	5%
グリセリン脂肪酸エステル	4%
ミツロウ	3%
ビタミンE	1%

アスクキサンチンジエステル 30%

【058】実施例7

* 康食品を製造した。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入りタブレット状健*

ハイプロビルセルロース 9%
 白糖 75%
 ステアリン酸マグネシウム 1%
 ビタミンC 10%
 アスタキサンチンジエステル 5%

【059】実施例8

※を製造した。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入り顆粒状健康食品※10

乳糖 75%
 デンプン 9%
 ビタミンC 4%
 ビタミンE 1%
 ゼラチン 1%
 アスタキサンチンジエステル 10%

【060】実施例9

★した。

以下の処方に従い常法により抗炎症剤入り養毛剤を製造★

エタノール 60.0%
 ヒマシ油 4.0
 レゾルシン 0.8
 メチルバラベン 0.1%
 トウガラシチンキ 0.5%
 α -トコフェロール 0.5%
 アスタキサンチンジエステル 0.5%
 精製水 残分

【061】実施例10

☆製造した。

次の処方に従い、常法により抗炎症剤入りシャンプーを☆

ラウリル硫酸トリエタノールアミン塩 16.0%
 ラウリン酸ジエタノールアミド 3.0%
 ポリアクリル酸トリエタノールアミン塩 0.5%
 ジンクピリジニウム-1-チオール-N-オキシド 1.0%
 アスタキサンチンジエステル 0.5%
 色素 微量
 香料 0.5%
 精製水 残分

【062】実施例11

◆た。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入りリンスを製造し◆

塩化ステアリルジメチルベンジルアンモニウム 1.4%
 ステアリルアルコール 0.6%
 グリセリルモスステアレート 1.5%
 塩化ナトリウム 0.2%
 アスタキサンチンジエステル 1.0%
 精製水 残分

【063】実施例12

*た。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入り浴用剤を製造し*

炭酸水素ナトリウム 35.5%
 クエン酸 38.0%
 ポリエチレングリコール 2.0%
 酸化マグネシウム 1.0%

17	18
α -トコフェロール	0.5%
アスタキサンチンジエステル	25.0%
色素	微量
香料	2.0%

【064】実施例13

*た。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入り歯磨きを製造し*

第二リン酸カルシウム二水和物	45.0%
カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.5%
カラギーナン	0.5%
グリセリン	10.0%
ソルビトール	10.0%
サツカリナトリウム	0.1%
ラウリル硫酸ナトリウム	2.0%
塩化ナトリウム	2.0%
α -トコフェロール	0.5%
アスタキサンチンジエステル	1.0%
防腐剤	0.1%
香料	0.5%
精製水	残分

【065】実施例14

20※した。

次の処方に従い常法により抗炎症剤入りうがい液を製造※

エチルアルコール	35.0%
グリセリン	14.0%
α -トコフェロール	0.5%
アスクキサンチンジエステル	1.0%
香料	0.1%
精製水	残分

【066】比較例4

(アスタキサンチンジエステルの物性) 本発明に使用できるイタノ冷凍社製アスタキサンチンジエステル含有オイルを高速液体クロマトグラムを用いて以下の条件で測定したところ、アスタキサンチンジエステルの極大ピークの保持時間が1分45秒であり、またアスタキサンチン類の全面積に対する面積比が61.2%であった。これに対し従来のアスタキサンチン及びアスタキサンチンのモノエステルを同じ条件で測定するとアスタキサンチンは3分01秒、アスタキサンチンジエステルは2分10秒に極大ピークが得られアスタキサンチンジエステル類と明確に分離できる。

【067】高速液体クロマトグラムの測定条件：ウォータース社製RPCマイクロボンドバックNH₂ (8mm, i. d x 100mm) のカラムを使用し、移動相にn-ヘキサン：2-ブロパノール：メタノール=75：15：15を用いて、流速2ml/min. で移動相を流した時、紫外可視吸収スペクトル検出器で470nmの吸収を測定した。

【068】比較例5

(外用による過酸化脂質抑制作用) チャールズリバー(CRT) ICRヌードマウスを2群に分け、一方の群

には試験区として下表に示す前記実施例のイタノ冷凍社製アスタキサンチンジエステル含有抗炎症組成物各1.0gを2x4cmのコットン製ガーゼに均一に塗布し20個体のマウスの背側の一定場所に固定した。他の一群にはコントロールとして前記実施例よりアスタキサンチンジエステルのみを除いた組成物を同様に固定し1日1回同時間に新しいものと交換しそれを14日間継続した。又このガーゼ交換の前に炎症促進物質として脂質過酸化反応開始剤である2, 2'-アゾビス(2-アミノプロパン)ジヒドロクロライド(以下AAPHと略す)3%(W/V)濃度水溶液2mlを前記と同じサイズのガーゼに染み込ませ1日1回全個体の同一場所に3時間張り付けた。14日後マウスの背部試験箇所表皮中の過酸化脂質濃度(以下FBARSと略す)をチオバルビツール酸反応性物質測定法により測定し試験区とコントロールのTBARSの比率を求めその平均値を下表にまとめた。この結果試験区である本発明の抗炎症剤を張り付けたマウスの表皮のTBARSはコントロールに比較し優位に低く表皮の炎症を防止することが示唆された。この比較試験の結果により本発明の抗炎症剤の効果

【069】

19	20
抗炎症剤名	T B A R S 比 (試験区 / コントロール区)
ク リ ー ム	0 . 8 1
乳 液	0 . 7 6
焼 毛 剤	0 . 4 2
歯 磨 き	0 . 5 1
う が い 液 (5 % 溶 液)	0 . 5 5

【070】比較例6

(経口による過酸化脂質抑制作用) スブラグーダウレイ系ラットにAAPH 10mg/kgを2% (W/V) 水溶液として強制経口投与し試験区には前記実施例の健康食品及び消炎剤20mg/kgをコントロール区には実施例からアスタキサンチンジエステルを除いたものを経*

*口投与した。摂餌、給水は自由とした。18時間後に小腸のTBARSを測定し比較例1と同様に試験区とコントロール区の比を求めた。結果は次表に示す通り本発明の健康食品及び消炎剤に過酸化脂質抑制作用が認められ抗炎症効果が確認された。

【071】

老化防止組成物名	T B A R S 比 (試験区 / コントロール区)
消炎剤 実施例 2	0 . 5 7
消炎剤 実施例 3	0 . 7 5
健康食品 実施例 6	0 . 6 5
健康食品 実施例 7	0 . 5 8
健康食品 実施例 8	0 . 7 4

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁵

A 6 1 K 31/24
31/60
31/70

識別記号

庁内整理番号

9455-4C

F I

技術表示箇所